

## (12) BREVET D'INVENTION

(11) N° de publication : **MA 46230 B1** (51) Cl. internationale : **C07K 14/005; A61K 39/12**

(43) Date de publication :  
**28.10.2020**

---

(21) N° Dépôt :  
**46230**

(22) Date de Dépôt :  
**14.09.2017**

(30) Données de Priorité :  
**15.09.2016 EP 16188866**

(86) Données relatives à la demande internationale selon le PCT:  
**PCT/EP2017/073141 14.09.2017**

(71) Demandeur(s) :  
**Janssen Vaccines & Prevention B.V., Archimedesweg 4 2333 CN Leiden (NL)**

(72) Inventeur(s) :  
**LANGEDIJK, Johannes, Petrus, Maria ; RUTTEN, Lucy ; TRUAN, Daphné ; STROKAPPE, Nika, Mindy**

**(86) N° de dépôt auprès de l'organisme de validation: EP17769027.8**

(74) Mandataire :  
**ATLAS INTELLECTUALPROPERTY**

---

(54) Titre : **MUTATIONS DE PROTÉINE D'ENVELOPPE DU VIH STABILISANT LA FORME TRIMÈRE**

(57) Abrégé : La présente invention concerne des protéines d'enveloppe du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) présentant des mutations qui stabilisent la forme trimère de la protéine d'enveloppe. Les protéines d'enveloppe du VIH présentent certaines substitutions d'acides aminés à des positions particulières dans la séquence de protéine d'enveloppe. Les protéines d'enveloppe du VIH décrites dans la description présentent un pourcentage amélioré de formation de trimère et/ou un rendement amélioré en trimère telles que comparées à une protéine d'enveloppe du VIH qui ne possède pas l'une ou plusieurs des substitutions d'acides aminés indiquées. La présente invention concerne également des molécules d'acide nucléique et des vecteurs codant pour les protéines d'enveloppe du VIH, ainsi que des compositions contenant les protéines d'enveloppe du VIH, l'acide nucléique, et les vecteurs.

## Revendications

1. Protéine de l'enveloppe (Env) d'un virus d'immunodéficience humaine (VIH) recombinante, comprenant deux des résidus d'acides aminés suivants ou plus :

- (i) Phe, Leu, Met ou Trp, de préférence Phe, à la position 651 ;
- (ii) Phe, Ile, Met ou Trp, de préférence Ile, à la position 655 ;
- (iii) Asn ou Gln, de préférence Asn, à la position 535 ;
- (iv) Val, Ile ou Ala, de préférence Val, à la position 589 ;
- (v) Phe ou Trp, de préférence Phe, à la position 573 ;
- (vi) Ile à la position 204 ; et/ou
- (vii) Phe, Met ou Ile, de préférence Phe, à la position 647,

dans laquelle la numérotation des positions est faite selon la numérotation dans une gp160 de l'isolat HXB2 du VIH-1.

2. Protéine Env de VIH recombinante, comprenant un ou plusieurs des résidus d'acides aminés suivants :

- (i) Phe, Leu, Met ou Trp, de préférence Phe, à la position 651 ;
- (ii) Phe, Ile, Met ou Trp, de préférence Ile, à la position 655 ;
- (iii) Asn ou Gln, de préférence Asn, à la position 535 ;
- (iv) Val, Ile ou Ala, de préférence Val, à la position 589 ;
- (v) Phe ou Trp, de préférence Phe, à la position 573 ;
- (vi) Ile à la position 204 ; et/ou
- (vii) Phe, Met ou Ile, de préférence Phe, à la position 647,

la protéine Env de VIH étant choisie dans le groupe constitué par :

- (1) une séquence consensus d'Env de VIH, par exemple provenant du clade C, comprenant par exemple la séquence d'acides aminés de SEQ ID n° : 2 ou 3, ou par exemple provenant du clade B, comprenant par exemple la séquence d'acides aminés de SEQ ID n° : 4 ou 5 ;
- (2) une protéine Env de VIH de synthèse, comprenant par exemple la séquence d'acides aminés de (a) : SEQ ID n° : 6 ; ou (b) : SEQ ID n° : 6 avec une mutation de Glu en Arg à la position 166 ; ou (c) : (a) ou (b) avec une mutation des acides aminés aux positions 501 et 605 en résidus de Cys et une mutation de l'acide aminé à la position 559 en un résidu de Pro ; ou (d) : (a), (b) ou (c) ayant une mutation en outre du site de coupure de furine, à titre d'exemple un remplacement des acides aminés aux positions 508 à 511 par RRRRRR (SEQ ID n° : 10) ; ou (e) SEQ ID n° : 7 ; ou (f) SEQ ID n° : 8 ou SEQ ID n° : 9 ; et
- (3) une protéine Env de VIH parente qui est, de préférence, une protéine Env de VIH de type sauvage, de préférence du clade C, comprenant au moins une mutation de réparation au niveau d'un résidu d'acide aminé qui est présent à la position correspondante à une fréquence inférieure à 7,5%, de préférence inférieure à 2%, des séquences d'Env de VIH dans une collection d'au moins 1 000, de préférence d'au moins 10 000, séquences d'Env de VIH de type sauvage, dans laquelle la mutation de réparation est une substitution par un résidu d'acide aminé qui est présent à la position correspondante à une fréquence d'au moins 10% des séquences d'Env de VIH dans ladite collection et, de préférence, la mutation de réparation est une substitution par le résidu d'acide aminé qui est le plus fréquemment présent à la position correspondante dans ladite collection ;

et

dans laquelle la numérotation des positions est faite selon la numérotation dans une gp160 de l'isolat HXB2 du VIH-1.

**3.** Protéine Env de VIH recombinante, comprenant un ou plusieurs des résidus d'acides aminés suivants :

- (i) Phe, Leu, Met ou Trp, de préférence Phe, à la position 651 ;
- (ii) Phe, Ile, Met ou Trp, de préférence Ile, à la position 655 ;
- (iii) Asn ou Gln, de préférence Asn, à la position 535 ;
- (iv) Val, Ile ou Ala, de préférence Val, à la position 589 ;
- (v) Phe ou Trp, de préférence Phe, à la position 573 ;
- (vi) Ile à la position 204 ; et/ou
- (vii) Phe, Met ou Ile, de préférence Phe, à la position 647,

la protéine Env de VIH étant une protéine Env de VIH comprenant au moins l'un des éléments suivants :

- (a) Cys aux positions 501 et 605 ;
- (b) Pro à la position 559 ;
- (c) Cys aux positions 501 et 605 et Pro à la position 559 ; et

la numérotation des positions est faite selon la numérotation dans une gp160 de l'isolat HXB2 du VIH-1.

**4.** Protéine Env de VIH recombinante des revendications 2 ou 3, comprenant deux des résidus d'acides aminés indiqués dans les paragraphes (i) à (vii) ou plus.

**5.** Protéine Env de VIH recombinante de l'une quelconque des revendications 1, 2 et 4, comprenant Cys aux positions 501 et 605 ou Pro à la position 559, de préférence Cys aux positions 501 et 605 et Pro à la position 559.

**6.** Protéine Env de VIH recombinante de l'une quelconque des revendications 1 à 5, comprenant trois des résidus d'acides aminés indiqués dans les paragraphes (i) à (vii) ou plus.

**7.** Protéine Env de VIH recombinante de l'une quelconque des revendications 1 à 5, comprenant quatre des résidus d'acides aminés indiqués dans les paragraphes (i) à (vii) ou plus.

**8.** Protéine Env de VIH recombinante selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, comprenant Phe à la position 651, Ile à la position 655, Asn à la position 535 et Val à la position 589.

**9.** Protéine Env de VIH recombinante de l'une quelconque des revendications 1 à 8, comprenant cinq des résidus d'acides aminés indiqués dans les paragraphes (i) à (vii) ou plus.

**10.** Protéine Env de VIH recombinante de l'une quelconque des revendications 1 à 9, comprenant en outre un ou plusieurs élément(s) parmi les suivants :

- (viii) Gln, Glu, Ile, Met, Val, Trp ou Phe, de préférence Gln ou Glu, à la position 588 ;
- (ix) Lys à la position 64 ou Arg à la position 66, ou bien Lys à la position 64 et Arg à la position 66 ;

- (x) Trp à la position 316 ;
- (xi) Cys aux deux positions 201 et 433 ;
- (xii) Pro à la position 556 ou à la 558 ou bien aux deux positions 556 et 558 ;
- (xiii) un remplacement de la boucle au niveau des positions d'acides aminés 548 à 568 (boucle HR1) par une boucle ayant de 7 à 10 acides aminés, de préférence une boucle de 8 acides aminés, par exemple ayant une séquence choisie parmi l'une quelconque des (SEQ ID n° : 12 à 17) ;
- (xiv) Gly à la position 568 ou Gly à la position 569 ou Gly à la position 636, ou bien Gly aux deux positions 568 et 636, ou Gly aux deux positions 569 et 636 ; et/ou
- (xv) Tyr à la position 302 ou Arg à la position 519 ou Arg à la position 520, ou bien Tyr à la position 302 et Arg à la position 519, ou Tyr à la position 302 et Arg à la position 520, ou Tyr à la position 302 et Arg aux deux positions 519 et 520.

**11.** Protéine Env de VIH recombinante de l'une quelconque des revendications 1 à 10, comprenant en outre une mutation dans une séquence de coupure de furine de la protéine Env de VIH, de préférence un remplacement aux positions 508 à 511 par RRRRRR (SEQ ID n° : 10).

**12.** Protéine Env de VIH recombinante de l'une quelconque des revendications 1 à 11, comprenant une séquence d'acides aminés qui est identique au moins à 95% à l'une quelconque des SEQ ID n° : 3, 5, 20, 22, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 31 ou 32.

**13.** Protéine Env de VIH recombinante de l'une quelconque des revendications 1 à 12, comprenant en outre : (xvi) un résidu d'acide aminé choisi parmi Val, Ile, Phe, Met, Ala ou Leu, de préférence Val ou Ile, de manière préférée entre toutes Val, à la position 658.

**14.** Protéine Env de VIH recombinante de l'une quelconque des revendications 1 à 13, étant une protéine gp140 ou une gp160.

**15.** Protéine Env de VIH recombinante de l'une quelconque des revendications 1 à 14, qui provient du clade C ou du clade A, de préférence du clade C.

**16.** Complexe trimérique comprenant un oligomère non covalent de trois des protéines Env de VIH recombinantes de l'une quelconque des revendications 1 à 15.

**17.** Particule, de préférence un liposome ou une nanoparticule, présentant à sa surface une protéine Env de VIH recombinante de l'une quelconque des revendications 1 à 15 ou un complexe trimérique de la revendication 16.

**18.** Molécule d'acides nucléiques isolée codant pour une protéine Env de VIH recombinante de l'une quelconque des revendications 1 à 15.

**19.** Vecteur comprenant la molécule d'acides nucléiques isolée de la revendication 18 liée, de manière opérationnelle, à un promoteur.

**20.** Vecteur de la revendication 19, qui est un vecteur adénoviral.

**21.** Cellule hôte comprenant la molécule d'acides nucléiques isolée de la revendication 18 ou le vecteur des revendications 19 ou 20.

**22.** Procédé de production d'une protéine Env de VIH recombinante, comprenant une culture de la cellule hôte de la revendication 21 dans des conditions appropriées pour une production de la protéine Env de VIH recombinante.

**23.** Composition comprenant la protéine Env de VIH recombinante de l'une quelconque des revendications 1 à 15, le complexe trimérique de la revendication 16, la particule de la revendication 17, la molécule d'acides nucléiques isolée de la revendication 18 ou bien le vecteur des revendications 19 ou 20, ainsi qu'un véhicule acceptable d'un point de vue pharmaceutique.

**24.** Procédé d'amélioration de la formation de trimères d'une protéine Env de VIH, le procédé comprenant une substitution d'un ou de plusieurs résidu(s) d'acides aminés dans une protéine Env de VIH parente, dans lequel l'une ou les plusieurs substitution(s) conduit/ conduisent à un ou plusieurs des acides aminés suivants :

(i) Phe, Leu, Met ou Trp, de préférence Phe, à la position 651 ;

(ii) Phe, Ile, Met ou Trp, de préférence Ile, à la position 655 ;

(iii) Asn ou Gln, de préférence Asn, à la position 535 ;

(iv) Val, Ile ou Ala, de préférence Val, à la position 589 ;

(v) Phe ou Trp, de préférence Phe, à la position 573 ;

(vi) Ile à la position 204 ; et/ou

(vii) Phe, Met ou Ile, de préférence Phe, à la position 647,

dans lequel la numérotation des positions est faite selon la numérotation dans une gp160 de l'isolat HXB2 du VIH-1.